Tome 58, nº 37 — Décembre 1951.

Origine de la Tunique des Tuniciers

par

M[me] PRUVOT-FOL.

Sceaux

Avec 10 figures dans le texte

Avant-propos

Le groupe des Tuniciers tient actuellement une bien petite place dans la bibliographie zoologique: quelques pages du « Zoological Record », moins encore, parfois une page ou deux seulement. Vers, Arthropodes, Mollusques en occupent quelque cinquante ou cent ! Serait-ce que tout est dit sur cet ordre de Prochordés et qu'il ne reste rien à découvrir à leur sujet ?

La systématique mise à part, les publications récentes s'intéressent au mode de bourgeonnement, à la composition du sang et à la tunique; au siècle dernier on a étudié le développement.

Ce groupe est cependant, si l'on y réfléchit, par bien des points le plus étrange de tout le règne animal. Par ses caractères inattendus, contradictoires, paradoxaux, il est à la fois apparenté aux animaux les plus évolués et semblable, par son mode de vie à ceux qui sont tout au bas de l'échelle; mieux encore, il montre des particularités qui ne se rencontrent que dans le règne végétal. C'est pourquoi il occupe entre les Vertébrés et les Invertébrés une position, si l'on peut dire, instable et incertaine.

Bien que les particularités qui distinguent les Tuniciers soient exposées dans tous les livres d'enseignement zoologique, et compulsés par Seeliger dans Bronn's Klassen, une énumération très sommaire ne me paraît pas inutile.

Deux premiers faits distinguent ce groupe à la fois de tous les Invertébrés et de tous les Vertébrés.

1° L'existence d'une tunique contenant de la cellulose, hydrate de carbone non azoté, et produit par ailleurs exclusivement végétal.

2° L'existence de vanadium reconnue dans les tissus ou le sang de ceux d'entre eux qui ont été étudiés au point de vue de sa recherche, ce corps faisant également partie de la chimie végétale, et inconnu, semble-t-il, chez les animaux.

Autres caractères:

3° Existence d'un follicule interne sous la membrane ovulaire, dans l'ovule, follicule énigmatique que l'on ne connaît pas ailleurs, et qui a excité la curiosité de maint chercheur et fourni l'objet de mainte discussion qui est restée sans solution satisfaisante.

Rappelons encore:

4° La variété exceptionnelle des cellules sanguines.

5° L'existence d'un péricarde clos, non cœlomique.

6° Le renversement périodique du sens du courant sanguin.

7° L'absence d'un organe d'excrétion communiquant avec l'extérieur et son remplacement par un « rein d'accumulation ».

8° L'absence d'un foie typique, remplacé par des glandes de la paroi stomacale et par une glande « pylorique » se déversant dans le rectum; et
L'existence d'une glande sous-ganglionnaire, où l'on a voulu voir un homologue de l'hypophyse des Vertébrés.

9° Le mode de développement inusité et la régression de la chorde dorsale et d'une partie du système nerveux.

10° Le mode ou les modes de bourgeonnement et de stolonisation; la migration des bourgeons sur le stolon; parfois la confusion des feuillets; et ce que l'on a appelé la « génération alternante ».

11° L'existence, chez les Appendiculaires, d'une capsule plus ou moins indépendante et renouvelable.

12° L'émission par certains d'une lumière à foyer localisé.

13° La vie fixée (ou qui parfois l'a été chez l'ascendant) ; la régression, la vie végétative, la nutrition au moyen de cils vibratiles, en contraste avec une parenté élevée, que l'existence momentanée d'une chorde fait attribuer au groupe.

La Tunique

Les Tuniciers étaient autrefois des Mollusques; si aujourd'hui on les place non loin de l'origine des Vertébrés (pour Dohrn, ce sont des poissons dégénérés !), leur mode de vie passive et végétative est conditionnée par l'existence de la tunique.

Du temps où l'on cherchait une utilité à tout organe existant on lui a trouvé une fonction de protection contre les ennemis extérieurs et les invasions bactériennes; on pouvait se demander si elle était plus nuisible qu'utile, puisqu'elle transformait des animaux doués de mouvement et de sensibilité en semi-végétaux...

Qu'est-ce donc que cette enveloppe qui diffère de celle des autres animaux ?

Ce n'est qu'une cuticule, dit Pizon. C'est une cuticule, dit M. Prenant dans son cours : « La tunique est essentiellement une sorte de cuticule que l'épiderme secrète à sa surface, mais elle est plus complexe qu'une cuticule banale... » Selon Chabry, c'est un « mésoderme extérieur ». Cependant les ascidiologues emploient le mot cuticule pour désigner seulement la couche externe, mince, résistante, de la tunique; mais Saint Hilaire remarque que « le terme n'est pas tout à fait exact, il faudrait dire : la couche externe densifiée de la tunique... la couche externe ne se forme pas seulement au début de la sécrétion, mais pendant toute la croissance de l'animal ».

Pour cette couche, le terme couche corticale me paraît l'appellation la mieux appropriée, et qui ne préjuge pas de sa nature. Elle ne semble différer du reste de la tunique que par une plus grande densité, résultat du contact avec le milieu externe ou de la pression due à l'accroissement interne (les couches s'ordonnent parallèlement à la surface) et parfois par une proportion différente de ses éléments : celluleux et fibreux, et par des inclusions, des incrustations, des épines... La présence supposée d'un épiderme externe n'a pas pu être démontrée.

Je pense qu'il faut la considérer comme un complexe: une cuticule épidermique envahie par des cellules migratrices mésenchymateuses ou épidermiques qui en modifient la nature chimique et physique. La cellulose n'en forme pas toute la substance; elle contient en proportions variables de la matière azotée, peut-être de la chitine.

La Cellulose animale ou Tunicine

L'existence de cellulose dans la tunique des Ascidies est admise et prouvée par les réactions chimiques et physiques: solubilité, coloration spécifique et propriétés optiques sont les mêmes (ou peut-être très analogues) que celles de la cellulose végétale. Il y a cependant des Tuniciers chez lesquels sa présence n'a pu être démontrée; et la proportion, la résistance aux solvants, n'est pas chez tous la même.

De minces fragments de tunique de *Phallusia mamillata* résistent très longtemps à l'action du liquide de Schweitzer. Je ne sais si l'on a cherché à expliquer le fait singulier de la contractilité de la tunique de *Halocynthia papillosa* après sa séparation du corps de l'animal; y aurait-il ici migration de cellules musculaires ?

Quant aux Appendiculaires, la présence de cellulose dans leur capsule a été niée (de même que chez *Doliolum*). Il n'existe pas, je pense d'étude récente sur ce point.

Provenance de la Cellulose dans la Tunique

Depuis Milne-Edwards on s'est demandé quels éléments des tissus devaient être tenus pour responsables de la production de la « tunicine », ou de son élaboration aux dépens de la nourriture. Est-ce l'épiderme, producteur de petites plaquettes qui seraient de nature cellulosique ? Ou bien des sphérules de glucose, trouvées dans les cellules « du testa » de *Ciona* se transformeraient-elles en cellulose ? On a trouvé dans ces mêmes cellules un di- ou polyphénol, sous forme de granules chromatiques. Les deux faits seraient, dit-on indépendants l'un de l'autre et peut-être successifs.

Mais les réactions de coloration spécifiques de la cellulose sont trop brutales pour que l'on puisse déceler le début de sa formation dans la cellule même sans détruire les éléments de celle-ci, et pour

qu'on puisse suivre cette formation dans l'intimité des tissus. Les cellules chez lesquelles ont été trouvées les granulations auxquelles il a été fait allusion, ou cellules du testa, sont bien, en effet, ces cellules, ou calymmocytes; mais ce qui a été décelé, et qui n'est pas la cellulose, a été considéré comme un produit de cellule vitellogène.

Malgré sa grande diversité d'aspect, de consistance, d'épaisseur etc., la tunique contient presque partout de la cellulose. Schmidt, qui la découvrit, émit l'idée d'un enveloppement de l'animal par un tissu végétal, algue ou autre, ce qui parut extravagant à ses successeurs. Mais il avait renoncé à sa conception à cause du réseau vasculaire de la tunique, et à la suite de travaux divers sur le développement. Depuis lors on s'est résigné à l'idée qu'un animal — et un seul — avait la faculté de fabriquer une substance végétale, et le fait est enseigné par zoologistes, botanistes, physiologistes et chimistes.

Mais la résignation n'est pas une vertu scientifique ; avant d'accepter le fait comme définitif, ne faut-il pas examiner si aucune autre supposition ne pourrait se présenter pour faire rentrer dans l'ordre des lois connues des faits aussi aberrants ? Ne faudrait-il pas épuiser toutes les hypothèses et explications possibles ?

Si la cellulose provient des organismes dont les Tuniciers font leur nourriture, il faut se demander par quel mécanisme elle est transportée dans la tunique; pourquoi tant d'autres animaux, qui se nourrissent de même, n'en ont pas trace; mais surtout si les quantités ainsi assimilées seraient suffisantes pour expliquer la teneur en tunicine de certaines tuniques; car une partie seulement du plancton est végétal, et la plupart des micro-organismes, même végétaux, n'en ont pas.

Si la tunicine est un produit de l'animal, il faut alors se demander quelles sont les cellules qui possèdent la faculté de la produire. On a attribué cette faculté tantôt aux cellules ectodermiques, tantôt à celles du mésenchyme émigrées dans la tunique.

Que l'épiderme ait un rôle dans la production de la tunique, cela n'est pas douteux; soit par une sécrétion à sa surface, soit par une desquamation de ses cellules, qui s'incorporent à sa substance. Le processus de sécrétion est visible en certains points où des filaments relient l'épithélium a la tunique, et spécialement autour des siphons, où l'adhérence est plus intime. Il se peut que la toute première couche de tunique embryonnaire soit, dans certains cas,

une production ectodermique et ne contienne pas de cellules; ce serait, jusque-là, une véritable cuticule qui, selon SALENSKY, ne contiendrait pas de cellulose. Quelle est sa composition ? Est-ce la même que chez les Vers, par exemple ?

L'apport de la tunicine que l'on y trouvera plus tard, serait alors dû aux cellules amaeboïdes migratrices; jusqu'ici cela n'est que rendu probable par le fait de l'absence de tunicine dans des cas où ces cellules font défaut.

L'adhérence entre l'épiderme et la tunique est généralement faible, parfois presque nulle, sauf au pourtour des siphons, des vaisseaux tunicaux et des stolons s'il y en a. Les Ascidiozoïdes des Ascidies composées se détachent facilement des cormus; certaines Ascidies simples peuvent être aisément déshabillées de leur tunique: (*Ascidiella scabra* p. ex.) et la régénèrent en peu de jours. Chez d'autres *(Ascidia mentula*, *Phallusia mamillata)*, l'opération ne réussit pas à cause de l'importance des vaisseaux de la tunique et de l'hémorragie consécutive à leur rupture.

Si l'épiderme avait un rôle exclusif ou prépondérant chez les Synascidies, on concevrait difficilement la fusion parfaite des tuniques des zooïdes en une masse unique, compacte, et sans limites internes, chez celles dont la tunique atteint une forte épaisseur. Mais elle contient partout de nombreuses cellules, qui ne manquent guère que chez les Appendiculaires et *Doliolum.*

« La tunique, dit CHABRY, consiste en une sorte de mésoderme extérieur, un tissu vivant par lui-même, ce qui le distingue de tous les exsudats muqueux, chitineux ou autres... Elle a une valeur anatomique différente des cuticules et des pièces calcaires des Mollusques... elle vit encore des heures séparée du corps; des fragments de tunique de *Pseudodidemnum* se meuvent de façon visible. »

LES CELLULES TUNICALES

Il n'y a donc aucun doute que les cellules tunicales jouent (presque partout) un rôle dans sa formation. Que sont ces cellules ? En partie des cellules détachées de l'épithélium; en partie des cellules mésenchymateuses ayant traversé l'épiderme; cet épiderme étant poreux, avec des lacunes entre ses cellules, ou bien ayant traversé les parois des vaisseaux externes. Elles sont de plusieurs sortes.

Il y a en outre dans plusieurs cas des algues parasites parfois très abondantes, qui contribuent à donner au cormus *(Amaroucium)*, sa couleur caractéristique, et qui ne sont pas toujours faciles à distinguer des cellules pigmentaires propres à l'animal.

Il est admis que les cellules émigrées sont mésenchymateuses et proviennent de la cavité générale; elles sont, de même que les cellules sanguines, d'une variété extrême, et diffèrent d'une espèce à l'autre. Elles ont fait l'objet de nombreux travaux. Ce que je retiens pour l'instant, c'est qu'à un certain moment du moins, les cellules du testa ou calymmocytes font partie du mésenchyme: ce fait ressort de l'histoire du Pyrosome et de la Cyclosalpe chez qui une infection bactérienne, décelable par les colorants, les différencient nettement des autres cellules embryonnaires, c'est-à-dire de celles qui proviennent de la division des blastomères. (Ces bactéries sont celles qui produiront la lumière.) Là où cette infection n'a pas lieu, donc dans la majorité des cas, ces cellules ont été confondues avec les petits blastomères dont elles différaient peu et on a facilement cru à leur disparition, par dégénérescence ou phagocytose.

Ce sont par conséquent les découvertes de Panceri, de Julin et de Pierantoni qui ont permis de démontrer la persistance de ces cellules qui s'insinuent entre les blastomères et qui plus tard constitueront ce qu'on appelle les « organes lumineux ». Il est à noter que l'on a cherché en vain chez les Tuniciers des organes hématopoiétiques, et que seuls les Pyrosomes et les Cyclosalpes possèdent ces amas de cellules situés dans des sinus (péricoronal et dorsaux), amas qui peuvent porter ce nom et qui, en même temps constituent ou fournissent les « organes » lumineux. Les amas sont formés de deux sortes de cellules; l'une, non infectée, prolifère par division caryokinétique.

Les Salpes ne possèdent pas ces « organes », mais fréquemment des cellules lumineuses éparses, qui peuvent avoir la même origine à partir des cellules du testa. Enfin il n'y a aucune raison de penser que la persistance ainsi constatée chez deux Familles n'existe pas aussi chez les autres Familles de Tuniciers possédant des calymmocytes dans leurs œufs, mais chez lesquelles ces cellules ne sont pas rendues décelables grâce à l'infection bactérienne, et fortement colorables.

Si elles persistent, elles feront partie de leur mésenchyme, et plus spécialement des cellules mésenchymateuses amaeboïdes

mobiles. J'irai plus loin encore: ces cellules du testa dispersées dans le mésenchyme, se rendront en partie, comme chez le Pyrosome, dans l'ovaire et pénétreront dans les jeunes ovules: C'est l'hypothèse que je vais exposer.

Origine des cellules du Testa

Ceci m'amène à la question controversée et jamais résolue de leur origine. « L'origine et la signification des cellules du testa, dit Seeliger, peuvent bien être considérées comme la question de détail le plus souvent traitée et le plus discutée de l'histoire du développement des cellules génitales des Ascidies; et il n'y a guère de mode de production imaginable qui n'ait été décrit par les premiers auteurs comme étant effectivement le leur. »

En bref, on a assigné tantôt:

A. Une origine endogène, nucléaire ou cytoplasmique.
B. Une origine folliculaire (et par conséquent germinale).
C. Une origine mésenchymateuse.

A. La première de ces hypothèses est abandonnée.

B. La seconde est le plus généralement admise. Il y a donc lieu de la discuter à la lumière des faits. C'est l'opinion des meilleurs spécialistes des Tuniciers: Kowalewsky, Todaro, Seeliger, Pierantoni, Ihle, Caullery, etc.

Mais il ne faut pas oublier de mentionner une nuance qui constitue, en fait, une différence assez considérable: ou bien les cellules du testa *sont* des cellules folliculaires. « On sait que la larve sortie de l'œuf est entourée de cellules folliculaires appelées Testazellen, qui se trouvaient déjà sur l'œuf et qui doivent correspondre à mon avis aux cellules du follicule de Graaf; ces cellules restent à la surface, se détachent et tombent » (Kowalewsky).

« Au cours de la segmentation se produit un phénomène absolument remarquable, la migration des cellules folliculaires de l'oviducte et de l'épithélium ovarien dans la cavité ovarique. Ces cellules recouvrent d'abord le massif blastomérique, puis y pénètrent, de sorte que les blastomères se trouvent séparés les uns des autres, enveloppés chacun dans une couche de cellules folliculaires » (P. Brien); et ailleurs: «Chez toutes les espèces de Salpes, les cellules folliculaires envahissent la cavité utérine. Ces cellules folli-

culaires ou calymmocytes, en prolifération caryocinétique active isolent les blastomères... »

Je pourrais multiplier les citations.

Comment expliquer cette confusion entre les follicules externe et interne, qui ne semble s'être produite que chez ceux des auteurs qui ont fait leurs observations principalement chez les Salpes ? C'est peut-être que chez elles il n'y a à aucun moment deux couches distinctes, folliculaires, concentriques, comme chez les Ascidies, mais grâce à leur mode de développement vivipare, avec placenta et enveloppes, une très grande difficulté à discriminer entre deux sortes de cellules pouvant avoir des origines et des rôles différents, et ne présentant pas la diversité d'aspect que l'on voit ailleurs ?

C'est un cas embarrassant à cause des contradictions que l'on trouve dans divers ouvrages. On ne trouve pas exprimée l'opinion que les calymmocytes proviennent du follicule, mais souvent l'expression cellules folliculaires *ou* calymmocytes. Si je tente de me faire une opinion en comparant textes et figures, car je n'ai pas eu l'occasion d'étudier ce matériel personnellement, j'arrive aux conclusions suivantes: Il y a bien des cellules du testa, mais elles ne s'étalent pas sur le vitellus: Il faut les chercher dans un amas « cellules lécithiques » de Todaro, qui se trouve au fond du sac ovulaire, dont les éléments se mêlent ensuite aux blastomères, et que par exemple Ihle appelle, d'après Salensky, « Eingewanderte Follikelzellen ». Le stade représenté est à quatre blastomères; l'oviducte est encore ouvert; rien ne prouve une prolifération du follicule, ni ne contredit la possibilité de la pénétration de cellules mésenchymateuses dans l'ovule.

Nous voyons donc le follicule externe et l'interne (calymmocytes), tantôt confondus sous une seule dénomination, tantôt dérivés l'un de l'autre. M. Caullery, par exemple, affirme que les calymmocytes proviennent du follicule externe, sans d'ailleurs donner les raisons de cette opinion, tandis que deux auteurs récents, Liebmann et Nils Knaben expriment des opinions différentes.

La pénétration de cellules germinales sœurs de l'ovule dans l'ovule très jeune et qui lui servent de nourriture, est très probable, étant un fait fréquent dans le règne animal: Pierantoni a constaté deux immigrations successives, l'une avec multiplication caryokinétique, la seconde avec division amitotique; s'agit-il bien de

cellules de même origine ? Et si ailleurs les deux invasions étaient simultanées, serait-il possible de distinguer les éléments ? N'a-ton pas pu confondre deux phénomènes distincts ? L'aspect des cellules folliculaires diffère énormément d'une famille à l'autre, des Thaliacés, où elles sont amincies en membranes, aux Ascidies où elles sont vacuolaires, spumeuses, et forment un appareil de flottaison.

Thaliacés: les cellules du testa sont plus grosses, plus ovales et contiennent un très petit noyau et des granulations colorables. On remarque sur les figures de JULIN et de PIERANTONI un amas à peu près lenticulaire de cellules au voisinage de la vésicule germinative (ce qui avait pu faire croire qu'elles en provenaient), amas des futures cellules du testa qui pénètrent par le hile ou point d'attache du sac embryonnaire lorsqu'il y en a un. Ailleurs (Pyrosome), on les voit engagées entre les cellules du follicule: Elles s'en détachent, suivant l'opinion courante, ou bien le traversent, suivant celle de quelques auteurs récents, qui est aussi la mienne; et cette dernière opinion peut s'appuyer sur les dessins mêmes d'auteurs tels que JULIN, PIERANTONI, SEELIGER qui, croient à leur origine folliculaire; figures dont l'analyse suivra.

C. Les cellules du testa sont mésenchymateuses. Elles pénètrent dans l'ovule en traversant le follicule, obéissant à quelque tropisme chimique.

Cette hypothèse n'est pas nouvelle. Déjà SEELIGER en avait l'intuition lorsqu'il disait: « Peut-être les calymmocytes ont-ils une double origine folliculaire et mésenchymateuse. » Idée qui, telle quelle, est difficilement admissible. Il y renonça d'ailleurs plus tard. Et cependant c'est à lui que l'on doit quelques dessins qui parlent clairement en faveur de la troisième hypothèse. Il avait d'abord exprimé l'opinion que non seulement les cellules du testa mais même les cellules folliculaires, étaient d'origine mésenchymateuse, les premières étant destinées à la nourriture, les secondes à la couverture de l'ovule. Mais ces notions paraissent un peu vagues.

Cette troisième hypothèse C est soutenue par LIEBMANN et par NILS KNABEN. Selon ce dernier, les cellules folliculaires proviennent de matériel génétique. Il croit qu'elles ne se multiplient pas sur place, mais sont des cellules migratrices mésenchymateuses (n'est-ce pas contradictoire ?) « Quand l'ovule a atteint 45 à 50 μ *(Corella parallelogramma)*, on voit apparaître de ci de là des

cellules qui se distinguent à plusieurs points de vue des cellules folliculaires environnantes: plasma plus clair, forme fuselée; ces cellules, qui s'identifieront plus tard avec les cellules du testa, sont en train de pénétrer dans le follicule... l'immigration est rapide et simultanée... » Knaben ne dit pas si ces cellules sont des cellules migratrices autonomes venues du dehors.

Liebman fait provenir les cellules du testa du mésenchyme. Il les appelle « Tréphocytes » et leur assigne un rôle nourricier. Il assure que ces cellules sont répandues dans tout le corps, dans tout le système sanguin, et pénètrent de bonne heure dans les ovules.

Analyse d'ouvrages concernant les calymmocytes, et des dessins

Les dessins proviennent de Julin, de Stier, de Pierantoni et probablement de Seeliger (sans indication d'auteur, dans le volume de Bronn's Klassen...) Les dessins de Pierantoni se rapportent aux organes lumineux des Pyrosomes; et comme il constate après Julin, que ces organes sont constitués par des cellules contenant des inclusions vermiformes qu'il regarde, de même que Buchner, comme des bactéries; comme d'autre part il montre que ces cellules infectées sont des cellules du testa, cette note est de la plus haute portée pour l'étude de ces cellules, ainsi que la planche VIII, qui l'accompagne. En effet, ces inclusions parasitaires leur confèrent une physionomie très particulière et si facile à distinguer qu'il a pu suivre leur évolution dans l'œuf et l'embryon avec leurs parasites, et jusque dans les bourgeons du cyathozoïde. Il croit que c'est au moment de l'infection de certaines cellules folliculaires que celles-ci se détachent, émigrent dans l'ovule et « deviennent » les cellules du testa; que celles-ci ne disparaissent pas, mais comme l'avait vu Julin, pénètrent dans l'embryon et constituent ses organes lumineux.

Qu'est-ce alors qui détermine cette migration et cette transformation en cellules du testa chez ceux des Tuniciers qui n'ont pas d'organes lumineux, pas de bactéries, c'est-à-dire chez la grande majorité d'entre eux ? Et en ce cas que deviennent-elles ?

Il ne peut y avoir de doute sur les observations de Julin et de Pierantoni; ce n'est que sur leur interprétation que l'on peut se faire une opinion différente.

Pendant l'accroissement de l'ovocyte (Pierantoni), les cellules du follicule se multiplient par mitose, peu à peu plus lentement; puis cessent, et alors de cylindriques deviennent pavimenteuses. Puis survient l'envahissement par les spores de bactéries, et une multiplication des noyaux par amitose (avec pont persistant entre les noyaux); puis prolifération des bactéries et migration de cellules infestées à l'intérieur de l'ovule; une fois la multiplication des bactéries achevée, la cellule ne se divise plus. L'ovule en contient environ 400 qui se répartiront entre les quatre ascidiozoïdes primitifs. Ces quatre cents cellules proviendraient donc des cellules « pavimenteuses » du follicule par une nouvelle prolifération différente de la première, et amitotique, et c'est la pénétration des bactéries qui devrait être tenue pour responsable de ce réveil de cellules épuisées, aplaties, auxquelles elle confèrerait un renouveau de vitalité aussi considérable ? Admettons-le. Mais alors comment expliquer la naissance des cellules du testa partout où il n'y a pas de bactéries, et où néanmoins on a constaté leur existence ?

Sur la figure 9, planche VIII de l'ouvrage cité, nous voyons en effet les spores pénétrer dans l'enveloppe de l'œuf et des noyaux se diviser. Du moins cela se passe au-dessus du pôle animal, dans une aire épaissie de cette enveloppe. Malheureusement les limites cellulaires ne sont pas dessinées; par contre, dans la figure 8, où l'on voit un calymmocyte infesté engagé dans le follicule et un autre *en dehors* de lui, les membranes sont très nettes. Au sujet des calymmocytes situés hors de l'œuf, je cite l'auteur, car cela a son importance: « Un altro fatto... ha una certa importanza... Tale fatto è la presenza de intere cellule luminose [1] (o testacee, che como è noto è lo stesso), fuori dell'uovo, presso il follicolo di uova completamente accresciute, ed ancora di tali cellule nello spessore della parete del follicolo: fig. 8. Ciò mette fuor dubbio la possibilità che intere cellule possano attraversare il follicolo. » Selon lui, ce seraient donc des cellules du testa qui seraient sorties de l'œuf. Il refuse de croire que les cellules du testa soient des cellules immigrées du dehors.

C'est une autre interprétation de ces faits que je voudrais suggérer.

---

[1] La figure citée n'en montre qu'une, mais le pluriel indique que l'auteur en a vu d'autres.

Pourquoi supposer que ces cellules sont sorties de l'ovule, et non pas qu'elles étaient sur le point d'y entrer ? En ce cas ce pourraient bien être des cellules mésenchymateuses destinées à devenir cellules du testa; et de même celles qu'on voit engagées dans le follicule, qui n'y seraient que de passage, venant du dehors et le traversant pour aller former la couche des calymmocytes. Ce processus, rendu visible par le fait qu'ici les cellules contiennent des bactéries, est ailleurs beaucoup plus difficile à déceler.

Sans entrer dans le détail de la production des organes lumineux des nombreux ascidiozoïdes d'un Pyrosome, notons seulement qu'une fois arrêtée la division des cellules infestées, le grand nombre d'éléments nécessaire à tout le cormus proviendrait selon l'auteur de cellules mésenchymateuses en amas localisés, infestés à leur tour. Il admet donc que ces bactéries peuvent infester deux sortes d'éléments d'origine totalement différente: cellules germinales du follicule et cellules mésenchymateuses, et que dans toutes deux elles auraient un même effet: la production de lumière. Cela semblerait tout au moins plus naturel, à priori, si ces éléments étaient de même origine.

Ces cellules infestées hors de l'ovule, constatées par Pierantoni, ne sont-elles pas des cellules mésenchymateuses infestées avant leur pénétration, de même que celles engagées dans le follicule, et le même phénomène ne se produit-il pas d'une façon identique, mais moins visible là où n'existent pas d'organes lumineux ? L'infestation ne serait pas alors la *cause* de leur migration dans l'ovule.

D'autres images viennent corroborer cette idée; principalement une figure par Seeliger, qui montre des ovules de Claveline juxtaposés, laissant entre leurs contours arrondis des espaces; ces espaces sont remplis de cellules folliculaires identiques à celles qui entourent chaque ovule d'une couche unique. On les distingue, malgré le faible grossissement de la figure, à leur aspect vacuolaire avec noyau pariétal; elles sont petites et presque sphériques. Or, à l'intérieur du follicule on voit des cellules plus grosses, de forme régulière, non vacuolaires, avec de nombreux granules. Et on en retrouve hors de l'ovule et hors du follicule, dans l'espace interovulaire, qui ont exactement les mêmes caractères, et dont l'un est engagé entre les cellules d'un follicule. Or il n'y a pas ici d'organes lumineux; mais on voit la même apparence de cellules

mésenchymateuses pénétrant dans l'ovule et devenant des calymmocytes.

Les cellules folliculaires revêtent des aspects extrêmement divers chez les Familles de Tuniciers; on peut cependant les grouper selon deux types généraux. Chez les œufs à développement externe, Ascidies, et en particulier *Ciona*, elles gonflent, se vacuolisent et servent d'appareil de flottaison; là ou le développement est interne, elles s'aplatissent et forment une membrane. Les calymmocytes aussi diffèrent chez les différents groupes. De plus il est probable qu'ils se modifient dans le courant de leur existence; c'est pourquoi il est si difficile de suivre leur sort hors de l'ovule, à son intérieur, pendant la segmentation, et enfin à l'éclosion. Quelques caractères cependant paraissent assez constants. Leur noyau est petit et achromatique, de sorte que son existence avait été niée tout d'abord; il y a dans ces cellules des inclusions, des granules parfois réfringents. Enfin personne ne les a vues en mitose [1], bien qu'elles se multiplient parfois abondamment. Si elles persistent, et si plus tard certaines d'entre elles se rendent dans la tunique comme l'a supposé Milne Edwards qui leur a donné leur nom de « cellules du testa », il faut donc chercher quelles sont les cellules tunicales qui leur ressemblent. Ce n'est point une chose facile: Saint-Hilaire a décrit jusqu'à 14 cellules de la tunique chez une espèce; et elles varient d'une espèce à l'autre. Celles du liquide sanguin ne sont pas moins nombreuses, comme l'ont montré Azema et J.-M. Pérès. Nous en trouvons décrites par ce dernier sous le nom de cellules à noyau achromatique, dont les grains se colorent vitalement au rouge neutre; elles font partie du sang et émigrent dans la tunique.

Destinée, rôle ou « utilité » des cellules du Testa

Plus encore que sur leur origine, les opinions diffèrent au sujet de leur rôle. Mis à part celui de former les organes lumineux, qui est un rôle exceptionnel et en quelque sorte accidentel, il leur en a été attribué plusieurs que je ne puis rappeler que brièvement, et qui sont exposés dans les traités.

[1] Sauf P. Brien; mais il s'agit de « cellules folliculaires devenant des calymmocytes ».

Pour SALENSKY, elles devaient remplacer les blastomères dans la formation de l'embryon, les blastomères étant éliminés; pour BROOKS, elles ne servaient plus que de guides pour les blastomères, et formaient une sorte de moule dans lequel s'organisaient les formes des organes de l'embryon. Là où on peut les suivre, on les voit s'insinuer partout où les blastomères en division laissent un espace libre; et l'on aurait plutôt l'impression, chez les Thaliacés, que la segmentation et l'organisation se font malgré elles, et non pas grâce à elles. On a enfin pensé encore qu'elles servaient de nourriture et étaient phagocytées par les blastomères (« Tréphocytes » de LIEBMAN).

La question de l'utilité de la luminosité pour le Pyrosome a été discutée; on ne peut en trouver aucune. Quant aux calymmocytes, il fallait aussi leur découvrir un rôle utile. Bon ou mauvais, utile ou néfaste, ils sont si généralement répandus, qu'il faut bien leur trouver un rôle; par leur fréquence, leur nombre, le stade précoce de leur envahissement, ils ne peuvent être indifférents. On s'est donc posé depuis longtemps les trois questions:

D'où viennent-ils ? Que deviennent-ils ? A quoi servent-ils ?

Les phénomènes de l'ovulation, de l'embryogénèse, offrent une telle diversité chez les Tuniciers qu'aucun auteur, à ma connaissance, n'en a fait une étude comparative générale. Dans les « Klassen » de Bronn, chaque grand groupe est traité par un auteur différent et spécialisé. La partie de l'ouvrage consacrée aux généralités ne fournit guère de détails comparatifs et laisse subsister toutes les incertitudes et les divergences. Il reste nombre de problèmes non résolus.

Les cellules phagocytées dans l'œuf sont-elles des calymmocytes comme le veut TODARO, ou des cellules germinales englobées de bonne heure ? Rôle nutritif: c'est celui que leur attribue LIEBMAN.

MILNE-EDWARDS, qui leur a donné le nom de cellules du testa [1] leur attribuait le rôle de former la tunique, qu'il appelait testa comme chez les Mollusques. C'est trop leur demander; mais CHABRY et SALENSKY assurent qu'il n'y a pas de tunicine dans la tunique avant l'apparition des cellules tunicales; de plus nous verrons qu'on n'en a pas trouvé dans certaines tuniques où manquent les cellules à l'état adulte.

[1] Selon l'interprétation du rôle qu'on leur attribue, ils ont changé de nom.

J'ai pratiqué la fécondation artificielle chez des *Ascidia* et des *Phallusia*, entre autres; les cellules folliculaires se désagrègent de bonne heure pendant que se forme la larve, tandis que les cellules du testa persistent; tant que les deux couches existent, elles se colorent différemment par la thionine. Quand la larve éclot, des calymmocytes persistent autour de la larve.

Chez les larves, peu après leur fixation sur des lames de verre, la tunique qui commence à se former en est encore parsemée (fig. 1). Leur absence dans la jeune tunique n'est donc pas un fait général. Malheureusement, lorsque j'ai voulu revoir des larves à ce stade, les fixer et les colorer, je ne me trouvais plus dans les mêmes conditions où j'avais une première fois réussi à les obtenir, et où je ne m'étais pas encore posé les questions exposées ci-dessus; c'est à Banyuls, en hiver, que ces élevages avaient réussi; mais, bien que les Directeurs des laboratoires de Monaco, puis de Dinard, et enfin de Villefranche m'aient procuré le même matériel en plus ou moins grande abondance, ce dont je les remercie très vivement, je n'ai pas eu la chance de trouver ces Ascidies au même point de maturité, et je n'ai eu qu'un très petit nombre de larves, qui ne se sont pas fixées. Il est maintenant trop tard pour que je puisse espérer reprendre cette étude, et c'est ce qui m'a décité à publier sans appuis suffisants une hypothèse qui m'a été suggérée surtout

---

LÉGENDE DES FIGURES 1 A 10.

1 et 2. Larves fixées de *Phallusia mamillata* peu de jours après leur fixation sur lames de verre.

3. Larve plus âgée d'un jour, vue de côté.

4. Cellules d'un œuf d'*Ascidia mentula* à l'éclosion, colorées.

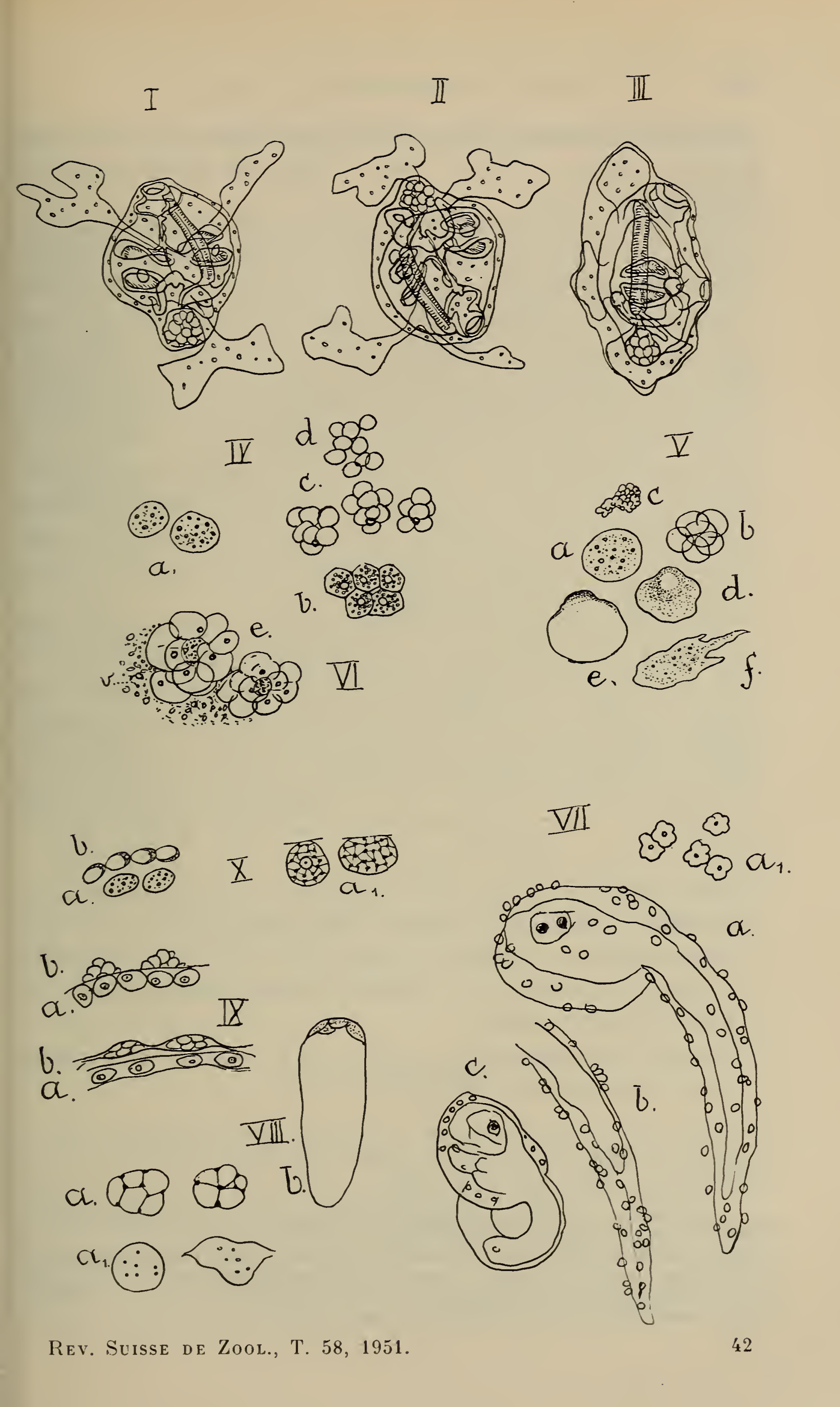
5. Cellules du sang d'*Ascidia* sp.; sur le frais.

6. Cellules du testa d'un *Polycarpa*, v, *vitellus*.

7. Des larves d'*Ascidia mentula* avec cellules du testa à la surface et dans la tunique larvaire.

(Les organes internes ne sont pas représentés). En C, la queue est en régression. La position des cellules a été repérée à la chambre claire. En a_1 cellules de la superficie un peu plus grossies.

Les figures suivantes sont schématisées d'après divers auteurs: 8, d'après N. Knaben; 9, d'après G. Neuman; 10, d'après Seeliger. a et a_1, cellules du testa; b, cellules folliculaires.


I
II
III
IV
d
c.
a.
b.
V
c
b
a
d.
e.
f.
e.
VI
VII
a₁.
a.
b.
X
a.
a₁.
b.
a.
IX
b.
a.
c.
b.
VIII.
b.
a.
a₁.

par l'étude approfondie des travaux déjà publiés. Hypothèse qui pourrait expliquer certains faits, et qui, me semble-t-il, n'est démentie par aucun.

Les cellules du testa adhérant à la tunique larvaire n'auraient, selon CHABRY déjà cité, aucune part à la formation de celle-ci. « La tunique de cellulose reçoit ses premiers éléments celluleux de l'ectoderme sous-jacent »; mais il ajoute que la tunique est « une sorte de mésoderme extérieur, vivant par lui-même ». Il ne croit donc pas que toutes les cellules de la tunique sont ectodermiques. Seraient-ce des cellules du testa ? « Plus tard, quand les cellules du testa sont devenues mésenchymateuses »... J'en reviens à ce que j'avais supposé déjà: La tunique est d'abord un exsudat ectodermique, une cuticule. Dans cette cuticule pénètrent (souvent) des éléments mésenchymateux qui tous, ou en partie, s'y désagrègent en y incorporant leur substance ou leurs produits; et ces produits sont peut-être cellulosiques.

Envisageons d'abord les deux groupes qui n'ont pas de cellulose dans leur manteau: les Appendiculaires et les Doliolidés.

L'embryologie des Appendiculaires est fort peu connue [1]; les quelques notions que l'on possède sont fragmentaires et anciennes. De plus, leur capsule, qui a fait l'objet de très remarquables travaux, a été surtout étudiée au point de vue de sa structure dont les détails ont été minutieusement décrits par LOHMANN. Nous savons:

1º Que cette capsule est très inégalement développée selon les Familles; qu'elle est caduque et subit des sortes de mues; que sa production est rapide; que selon H. FOL [2], elle ne se colore ni par les colorants de la cellulose, ni par l'acide osmique, ni par le nitrate d'argent.

2º Qu'elle ne contient pas de cellules; on n'a pas trouvé d'ailleurs de cellules sanguines non plus.

---

[1] Les quelques faits connus proviennent des travaux de H. FOL, 1872; BOLLES LEE, 1884 et SALENSKY, 1902.

[2] H. FOL, 1872; LOHMAN, 1889; MERTENS,

[3] Le rôle de la capsule d'*Oikopleura* pour la capture des éléments est douteux; le rôle respiratoire n'est guère plus probable. Elle peut servir de flotteur et économiser les efforts de l'animal pour se maintenir à flot dans un milieu moins dense que lui (LOHMAN), mais il la quitte fréquemment et facilement; et les changements de profondeur diurnes et nocturnes sont trop rapides, a-t-on constaté, pour être accomplis à son intérieur.

3° Que l'ovule, pour autant que ce stade est connu, ne contient pas de cellules du testa.

L'antiquité de cette famille de Tuniciers est démontrée par la trouvaille d'un fossile du Cambrien, *Oesia disjuncta*, à la surface duquel on peut distinguer les cellules ectodermiques productrices de la capsule. Chez le *Doliolum*, la queue persiste moins longtemps. Chez celui-ci, de même, selon Uljanin, il n'y a ni cellules, ni tunicine dans l'enveloppe. Il y aurait ici, cependant, des cellules du testa dans l'ovule, mais celles-ci seraient expulsées au moment où se forme la membrane de fécondation. Les études sur ces familles sont pour la plupart anciennes et ne peuvent, qu'avec prudence être utilisées pour appuyer une hypothèse. Tandis que, chez *Doliolum* la tunique est très mince et ne contient pas de cellules, elle est chez *Doliopsis* épaisse et en contient. Et si l'on ne trouve plus les calymmocytes à la surface de l'embryon, on peut se demander s'il n'en a pas pénétré dans son intérieur comme chez le Pyrosome et si, plus tard, on ne pourrait les reconnaître dans ces énigmatiques cellules qui, voyageant à la surface de cette mince tunique, transportent les bourgeons et qu'on a appelés « Phorocytes » ? Cette supposition n'est pas plus extraordinaire que les faits eux-mêmes constatés par Uljanin, Barrois et Korotneff et devenus classiques.

Que sont ces phorocytes ? D'où viennent-ils ?

Selon Neumann ce sont des cellules ectodermiques de la base du stolon, migratrices et amiboïdes; ce rôle ne paraît pas cadrer avec les notions généralement admises au sujet des cellules ectodermiques; si le fait a été dûment constaté, il doit prévaloir sur tout raisonnement; mais l'a-t-il été ?

Une hypothèse

Au milieu de tant d'opinions contradictoires, est-il permis de faire un choix et d'émettre une hypothèse de nature à expliquer certains faits et certaines anomalies constatées ?

Une fois admise la nature mésenchymateuse des calymmocytes et d'autre part leur persistance dans l'embryon dans le système sanguin duquel ils circulent, il n'y a aucun empêchement à ce qu'ils continuent le même circuit, qui forme un cycle fermé. Ainsi

ces cellules énigmatiques ont jusqu'à un certain point leur vie propre, autonome, elles vivent dans l'animal et s'y multiplient comme dans un hôte, puisqu'à aucun moment elles ne dérivent de la vésicule germinative et des blastomères qui en proviennent.

Mais alors on est amené à se demander s'il ne s'agirait pas là d'un cas de symbiose: symbiose fort ancienne et qui aurait eu sur l'évolution des Tuniciers une influence profonde et durable. Car si ce sont les calymmocytes qu'il faut rendre responsables de la production de la tunicine, ils ont par ce fait modifié considérablement la morphologie et la physiologie de cette classe et conditionné ses caractères si particuliers.

Cette hypothèse serait peut-être corroborée par le fait que les Appendiculaires, les plus anciens d'entre eux, ont si peu varié depuis le Cambrien, conservant leur chorde, leur queue, leur mobilité, que les autres membres, dégénérés, ont perdus.

Si cela était, il serait nécessaire de connaître la nature du symbiote. Il serait de nature végétale puisqu'il produit de la cellulose. Peu de protophytes en produisent. Il y en a cependant chez quelques-uns, et même chez une bactérie; on en a trouvé chez des Péridiniens, chez quelques champignons, chez les Trichomycètes.

Comment pourrait-on apporter la preuve d'une telle hypothèse ? Par la culture du symbiote, évidemment; mais cela paraît dès l'abord exclu.

Le symbiote, si symbiote il y a, est depuis trop longtemps et trop parfaitement adapté à son hôte, trop intimement mêlé à son existence pour pouvoir être élevé sur un milieu artificiel. Par contre, il serait certainement plus aisé de démontrer son inanité en suivant l'histoire du follicule, en démontrant son origine germinale, et en montrant de façon indubitable que les cellules du testa en dérivent. Mais cette démonstration, qui la réduirait à néant, reste également à faire. Une citation montrera quelles sont les difficultés à prévoir.

« Il y a infection normale dans le cas où l'on trouve toujours pour les plantes d'une même espèce, les tissus envahis de la même manière, par un même champignon... Si dans ce cas l'infection a encore pour conséquence l'apparition de certains caractères chez les êtres atteints, ces caractères doivent exister, comme l'infection elle-même, chez tous les individus de l'espèce, et ils ont dû forcément être considérés comme des caractères spécifiques; en un mot, ce

ne sont plus des symptomes indicateurs permettant de prévoir immédiatement l'infection.

Il y a là pour la reconnaissance des infections normales une difficulté réelle, qui peut seule expliquer que l'on soit relativement peu avancé dans leur étude [1]. »

Quelques résultats de recherches personnelles

Ces recherches, auxquelles j'ai déjà fait allusion: élevages de larves d'Ascidies et leur fixation; colorations vitales des œufs fécondés artificiellement, n'ont pu être répétées faute d'avoir pu retrouver du matériel à l'état de maturité voulu. Les résultats ont été fragmentaires. Les voici sommairement exposés.

Essais de coloration vitale.

Ascidia mentula. Des œufs, après fécondation artificielle: au bout de 13 heures l'embryon est recourbé, la chorde est formée, mais la queue n'a pas toute sa longueur. De nombreuses cellules du testa sont adhérentes sur toute sa surface en couche discontinue, mais ne se séparent de l'ectoderme que dans l'angle que forment ensemble les deux parties « tête » et queue de la larve. Si l'on colore par le rouge neutre, les cellules folliculaires, non encore spumeuses, se colorent en rouge virant au rouge brun et empêchent de voir l'intérieur de l'œuf par transparence.

A l'éclosion les larves sont couvertes de nombreuses cellules du testa, superficielles ou engagées dans la tunique, environ 50, mais parfois plus, ou moins.

Ciona intestinalis. Deuxième jour du développement. Coloration des œufs par la thionine. Les cellules folliculaires sont rose-mauve, les calymmocytes vert bleu; l'embryon non coloré. Le follicule est en voie de régression.

Ascidia mentula. Après un essai de fécondation qui ne paraît pas avoir donné de résultat; le lendemain, une coloration par le bleu de toluidine; le follicule spumeux est coloré en rose, les cellules du testa en bleu. Ces dernières forment sur le vitellus une couche discontinue; la coloration s'accentue sur les granulations

[1] Bernard. La Tubérisation (Thèse).

de ces cellules, qui deviennent bleu foncé. Ces cellules sont plus petites que les cellules folliculaires, plus compactes, non spumeuses. On aperçoit une seconde membrane, celle qui a été appelée membrane vitelline, entre le vitellus et les calymmocytes.

Coloration par le sulfate de bleu de Nil. Le follicule se colore fortement en bleu violet; les cellules du testa en bleu vert, mais faiblement.

Par le rouge neutre, le follicule spumeux se colore en rouge-saturne à vermillon tournant au rouge cuivre; les cellules du testa sont légèrement rougeâtres, les granules sont carmin foncé.

Par la thionine, le follicule se colore en rose pâle, les noyaux des cellules en rose violacé. Dans les calymmocytes, les granules sont bleu à bleu violet foncé.

On constate donc partout une colorabilité différente entre ces deux ordres de cellules; elles diffèrent aussi d'aspect, celles du follicule étant muriformes, tandis que celles du testa sont ovalaires et polygonales par places, là ou elles sont serrées en plages plus denses. Mais celles que l'on voit sur les larves se montrent comme bosselées, en forme de petites rosaces, sans paraître prêtes à se désagréger. A ce moment, leur noyau est central et plus facile à voir.

Lors de tous ces derniers essais, le pourcentage des larves a été très faible; elles ont servi aux essais de coloration et il n'a pu être obtenu de fixations sur lames.

Les larves de *Phallusia* fixées obtenues précédemment avaient été dessinées; j'en reproduis ici quelques figures. Les dates notées étaient fin janvier et février.

On voit la tunique des papilles adhésives s'étaler sur le support et se subdiviser en digitations aplaties. Partout sur la larve, comme sur ces digitations, la tunique contient de nombreuses cellules du testa assez régulièrement réparties. Y a-t-il déjà à ce stade des cellules émigrées ? Je ne saurais le dire, car il y avait déjà des cellules dans la tunique de la larve. S'il y en a, elles ne peuvent en être distinguées.

Conclusions

Depuis quelques années les exemples de symbioses et ceux de parasitisme qu'il n'est pas toujours possible d'en séparer, se sont multipliés, et l'on a été jusqu'à soupçonner certaines parties

constituantes de la cellule; ainsi le noyau, les mitochondries, ce qui n'a pas été accepté. Mais il en est un bon nombre qui sont devenus classiques, en particulier, les cas de symbiose chez les insectes, avec transmission par l'œuf, mycétomes... (Buchner). Symbiose des bactéries lumineuses chez les Poissons, les Céphalopodes... et le Pyrosome. Il est admis sans conteste qu'il n'y a pas de chlorophylle animale, que là où on en trouve, elle provient d'algues symbiotiques (Zoochlorelles). Enfin dans la plupart des cas (certains prétendent même toujours), la luminosité chez les animaux est due à une infection de bactéries.

La production de cellulose par des organismes animaux et des organismes assez élevés dans l'échelle a de quoi surprendre et n'a en aucune façon été expliquée.

Cette étude ne peut prétendre avoir prouvé l'existence d'une symbiose chez les Tuniciers, mais seulement sa possibilité; il ne s'agit que d'une hypothèse qui, si elle se vérifiait, lèverait plus d'une difficulté.

ADDENDUM

Dans l'Atlas du volume de Bronn's Klassen, les figures suivantes illustrent les faits que j'ai cherché à mettre en lumière.

De même que la figure 151 B, dans le texte, la planche XXVII, figure 6 montre le passage de cellules mésenchymateuses traversant le follicule, chez la Claveline (ici elles ne sont pas bien différentes d'aspect des cellules folliculaires). Les figures 8, 9 et surtout 10, montrent à quel point elles diffèrent; et plus encore chez *Ciona*, figure 11. Tandis que la figure 5 rend très probable le développement du follicule aux dépens d'ovules entourant l'ovule en croissance.

La figure 11, planche XXVI chez le Botrylle, montre les cellules mésenchymateuses accolées au follicule et les cellules du testa identiques avec elles, tandis que celles du follicule sont beaucoup plus petites.

Sur la planche XXVIII, des cellules contenues dans la queue larvaire de *Clavelina* sont appelées « Testazellen »; figure 5. Et nous voyons chez *Fragarium*, figurée par Salensky, une plaque de Calymmocytes (tzp = Testazellenplatte), entre l'ectoderme enbryonnaire et le follicule, du côté du hile, dans le même espace circulaire que les cellules du testa dispersées autour de l'ovule.

BIBLIOGRAPHIE

1929. Azéma M. *Le tissu sanguin des Polyclinidae.* C.R. Soc. Biol. Paris 102, pp. 918-920.

1930. Azéma H. et Pied H. *Recherche du vanadium dans le sang des Ascidies.* C.R. Acad. Sc. Paris 190, pp. 220-222.

1901. Bernard. *Etudes sur la tubérisation.* Thèse sc. Paris.

1859. Berthelot M. *Sur la transformation en sucre de la chitine et de la tunicine, principes immédiats contenus dans les tissus des animaux invertébrés.* Annales de chimie, t. 56, pp. 149-156.

1934. Brien P. *Contribution à l'étude de l'embryogénèse des Tuniciers.* Ann. Soc. Zool. Belge 64, pp. 21-58.

1893. Brooks W. K. *The genus Salpa.* Mem. Johns Hopkins Univ. 371 pp.

1930. Buchner P. *Tier und Pflanze in Symbiose.* 2e éd., 900 pp.

1894. Caullery M. *Sur les Ascidies composées du genre Distaplia.* C.R. Acad. des Sci. 118, nº 11, pp. 598-600.

1887. Chabry L. *Embryologie normale et tératologie des Ascidiens.* Journ. Anat. et Phys. XXIII, pp. 167-319.

1896. Floderus M. *Ueber die Bildung der Follikelhüllen bei den Ascidien.* Zeitsch. Wiss. Zool. LXI, pp. 163-260.

1872. Fol H. *Etudes sur les Appendiculaires du détroit de Messine.* Mem. Soc. Phys. Genève XXI, pp. 445-498.

1877. —— *Sur la formation des œufs chez les Ascidies.* J. de microsp. 1, pp. 281-284.

1884. —— *Sur l'œuf et ses enveloppes chez les Tuniciers.* Rec. Zool. suisse T. I.

1918. Hecht S. *The Physiology of Ascidia atra Les.* J. Exp. Zool. Philadelphia 25, pp. 229-299.

1893. Heider K. *Ueber die Bedeutung der Follikelzellen in der Embryonalentwicklung der Salpen.* S. B. Ges. naturf. Berlin, nº 9, pp. 232-242.

1911-13. Henze M. *Untersuchungen über das Blut der Ascidien.* Hoppe-Seylers Zs. physiol. Chem. Strassburg. 1 Mitt. 72, 1911, pp. 494-501; 2. Mitt. 79, 1912, pp. 215-228; 3. Mitt. 86, 1913, pp. 340-344.

1912. Ihle J. E. W. *Salpae 1.* Das Tierreich. 32. Lieferung.

1912. Julin Ch. *Recherches sur le développement embryonnaire de Pyrosoma giganteum Les.* Zool. Jahrb. Jena, Suppl. 15, Bd. 2, pp. 775-863.

1936. Knaben N. *Ueber Entwicklung und Funktion der Testazellen bei Corella parallelogramma Müll.* Bergens Mus. Arb., pp. 1-33.

1892. Kowalewsky A. *Einige Beiträge zur Bildung des Mantels der Ascidien.* Mém. Ac. Petersb., VII, 28, nº 10, pp. 1-20.

1946. Liebmann. in " Groth" X, 3, pp. 291-330.

1899. LOHMANN H. *Das Gehäuse der Appendicularien nach seiner Bildungsweise, seinem Bau und seiner Funktion.* Zool. Anz. XXII, nº 587, pp. 206-214. (Et Appendiculaires dans diverses relations de voyages.)

1846. LOEWIG C. et KOLLIKER Alb. *De la composition et de la structure des enveloppes des Tuniciers.* Ann. Sc. Nat. Zool., V, pp. 193-238.

1897. METCALF M. M. *The follicle cells of Salpas.* Zool. Anz., nº 534, pp. 210-217.

1843. MILNE EDWARDS H. *Eléments de zoologie*, 2e édition.

1923. MOLISCH. *Mikrochemie der Pflanze.* Jena.

1913. NEUMANN G. *Salpae II.* Das Tierreich, 40. Lieferung.

1872. PANCERI P. *Gli Organi luminosi...* Atti. Acc. Napoli.

1921. PIERANTONI V. *Gli Organi luminosi.* Simbiotici ed il loro ciclo ereditario in Pyrosoma giganteum. Publ. Staz. Zool. Napoli, 3, pp. 191-222.

1945. PÉRÈS J. M. *Première contribution à l'étude du sang et de la tunique des Didemniidés.* Bull. Inst. Oc. Monaco, pp. 1-18.

1947. —— *Recherches sur le sang et les organes neuraux des Tuniciers.* Ann. Inst. Océanog. Paris, N.S. 21 (5), pp. 229-359.

1931. SAINT-HILAIRE K. *Morphogenetische Untersuchungen des Ascidienmantels.* Zool. Jahrb. Jena (Anat.), pp. 435-608.

1892. SALENSKY W. *Ueber die Thätigkeit der Kalymmocyten (Testazellen) bei der Entwicklung einiger Synascidien.* Festsch. zum 70. Geburtst. R. Leuckarts, pp. 109-120.

1895. —— *Neue Untersuchungen über die Embryonalentwicklung der Salpen.* Mittl. Zool. Stat. Neapel, IV.

1895. —— 1) *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Synascidien.* 2) *Ueber die Entwicklung von Didemnum niveum.* 3) *Allgemeiner Theil.* Mitt. Stat. Neapel XI, pp. 488-630.

1851. SCHACHT H. *Microscopisch-chemische Untersuchungen des Mantels einiger Ascidien.* Müller's Arch., pp. 176-201.

1845. SCHMIDT C. *Zur vergleichenden Physiologie der Wirbellosen Thiere.* Liebig's Annal der Chemie, LIV, pp. 284-330.

1863. SCHULZE F. E. *Ueber die Struktur des Tunicatenmantels und sein Verhalten im polarisierten Lichte.* Z. für die Wissensch. Zool., XII, pp. 175-188.

1882. SEELIGER O. *Zur Entwicklungsgeschichte der Ascidien.* Wien. Akad. Sitzber., 85, pp. 361-415.

1884-85. —— *Die Entwicklungsgeschichte der socialen Ascidien.* Jena Z. Nat., XVIII, pp. 45-120 et 528-596.

1893. —— *Einige Beobachtungen über die Bildung des äusseren Mantels der Tunicaten.* Zeitsch. wiss. Zool., LVI, pp. 488-505.

1893. —— *Tunicata.* Bd. III. Supp. Bronn. Klassen und Ordn. des Tierreichs.

1938. Stier A. *Beiträge zur Embryonalentwicklung der Dalpa pinnata.* 3 morph. Ökol. Tiere, 33, pp. 582-632.
1910. Steuer A. *Planktonkunde.* 8°.
1881 Todaro F. *Sui primi fenomeni dello sviluppo delle Salpe:* Atti real. accad. Lincei IV, pp. 86-89, et Arch. ital. de Biol. II, pp. 1-8.